

AperTO - Archivio Istituzionale Open Access dell'Università di Torino

## Influenza dell'esposizione dei grappoli alla luce sulla composizione polifenolica dell'uva

### This is the author's manuscript

*Original Citation:*

*Availability:*

This version is available <http://hdl.handle.net/2318/22595> since

*Terms of use:*

Open Access

Anyone can freely access the full text of works made available as "Open Access". Works made available under a Creative Commons license can be used according to the terms and conditions of said license. Use of all other works requires consent of the right holder (author or publisher) if not exempted from copyright protection by the applicable law.

(Article begins on next page)



# UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI TORINO

***This is an author version of the contribution published on:***

*Questa è la versione dell'autore dell'opera:*

GUIDONI S; FERRANDINO A; NOVELLO V (2007) **Influenza dell'esposizione dei grappoli alla luce sulla composizione polifenolica dell'uva**, ITALUS HORTUS (ISSN:1127-3496), pp. 199- 203. Vol. 14.

***The definitive version is available at:***

*La versione definitiva è disponibile alla URL:*

[www.soihs.it](http://www.soihs.it)

# INFLUENZA DELL'ESPOSIZIONE DEI GRAPPOLI ALLA LUCE SULLA COMPOSIZIONE POLIFENOLICA DELL'UVA.

(Ricerca finanziata con il contributo della Regione Piemonte)

**Guidoni S., Ferrandino A. Novello V.**

Dipartimento Colture Arboree, Università di Torino, Via L. Da Vinci, 44. 10095 Grugliasco (TO). Fax: 011 6708658; email: [silvia.guidoni@unito.it](mailto:silvia.guidoni@unito.it)

## Riassunto

L'obiettivo della sperimentazione è stato quello di approfondire le relazioni esistenti fra l'esposizione dei grappoli alla luce, la maturazione dei frutti e il profilo antocianico e dei flavonoli dell'uva. L'esposizione precoce dei grappoli alla luce ha causato un anticipo dei fenomeni di trasformazione degli antociani e dei polifenoli (diminuzione della concentrazione nelle ultime fasi d'osservazione), un aumento delle percentuali della malvidina-3-glucoside e delle sue forme legate all'acido p-cumarico ed un aumento dei flavonoli (quercetina monoglucoside in particolare). Al contrario, l'esposizione tardiva ha indotto un periodo d'accumulo dei composti più prolungato e una variazione del profilo degli antociani ma non di quello dei flavonoli.

**Parole chiave:** Barbera, antociani, flavonoli, temperatura, luce.

## Abstract

THE EFFECTS OF BUNCH SUNLIGHT EXPOSURE ON THE BERRY SKIN PHENOLIC COMPOSITION OF *VITIS VINIFERA L* (cv BARBERA)

The relations existing among bunch sunlight exposure, berry ripening and the anthocyanin and flavonol profiles were studied on cv Barbera. Early bunch sunlight exposure induced an anticipation of anthocyanin decrease during the last phases of the observed period, an increase of free and esterified (p-coumaric acid) malvidin-3-O-glucoside percentages and an increase of flavonols (quercetin glucoside, in particular). On the contrary, late bunch sunlight exposure prolonged the accumulation of polyphenols, induced variation of the anthocyanin profile but it did not change the flavonol contents.

**Key words:** Barbera, anthocyanins, flavonols, temperature, sunlight.

## Introduzione

Il variare dell'intensità d'esposizione dei grappoli alla luce può comportare un diverso evolvere della maturazione; la composizione dell'uva è, infatti, influenzata sia dall'effetto diretto (qualità e quantità della luce) sia da quello indiretto (temperatura) da essa scaturita su grappoli e foglie. Un elevato livello d'illuminazione dei grappoli dovrebbe portare a maggiori accumuli di sostanze nelle bacche, poiché le più favorevoli condizioni luminose influenzano i processi biochimici che sono dipendenti dalla luce e che avvengono all'interno della bacca. Fra questi può essere favorita l'attività di enzimi fotoinducibili come la fenilalanina-ammonio liasi (PAL) e la calcione sintasi, responsabili della sintesi dei polifenoli (Roubelakis-Angelakis e Kliewer, 1986; Dokoozlian e Kliewer, 1996), sostanze che, come noto, svolgono un ruolo di primaria importanza nel determinare le qualità organolettiche sia dell'uva sia del vino.

La maggiore esposizione dei grappoli alla luce può però avere, come effetto collaterale, un incremento della temperatura degli stessi (Bergqvist *et al.*, 2001; Spayd *et al.*, 2002). Nel caso in cui non si verifichi aumento di temperatura, gli effetti sono generalmente positivi poiché gli zuccheri ed il volume delle bacche possono aumentare e l'accumulo degli antociani, dei polifenoli e delle sostanze aromatiche nelle bucce può essere favorito migliorando le caratteristiche organolettiche dei vini (Kliewer, 1977; Hale e Buttrose, 1974; Smart *et al.*, 1985; Crippen e Morrison, 1986; Dokoozlian e Kliewer, 1996). Nel

caso in cui la temperatura aumenti in dipendenza della maggiore esposizione, si possono verificare, invece, influenze negative quali inibizione dell'accumulo zuccherino, maggiore degradazione dell'acido malico, diminuzione delle dimensioni delle bacche, danni da scottature, inibizione della formazione di colore (Fitzgerald e Patterson, 1994; Vasconcelos e Castagnoli, 2000; Bergqvist *et al.*, 2001; Spayd *et al.*, 2002). E' stato anche dimostrato che, in clima caldo arido (Haselgrove *et al.*, 2000), grappoli maturati in condizioni di elevata luminosità avevano un contenuto in antociani totali minore rispetto a quello di grappoli maturati all'ombra, con aumento significativo della percentuale di malvidina-3-glucoside e diminuzione di quella di malvidina-3-p-cumarilglucoside. Tali grappoli non manifestavano variazioni significative né del grado zuccherino, né del peso degli acini mentre si è osservato, come rilevato anche da altri autori (Price *et al.*, 1995, Spayd *et al.*, 2002), un notevole aumento del contenuto in quercetina-3-glucoside. Al contrario in grappoli cresciuti in situazioni di maggiore ombreggiamento e di minor calore, si sono rilevati un grado zuccherino inferiore, un'acidità maggiore ed un contenuto in antociani totali maggiore di quelli esposti a sud (Bergqvist *et al.*, 2001) e, nel caso estremo in cui gli acini sono maturati costantemente in assenza di luce, è stata dimostrata anche una rilevante diminuzione dei flavonoli (Downey *et al.*, 2004).

Recentemente è stato anche osservato che le temperature elevate (30 °C) possono avere effetti diversi sull'accumulo degli antociani, in funzione della fase di sviluppo in cui si verificano (Yamane *et al.*, 2006); poche sono però le informazioni relative al comportamento delle singole antocianine o dei singoli flavonoli in funzione delle variabili temperatura e luce, ma è molto probabile che variazioni dell'intensità della radiazione solare possano influenzare la concentrazione relativa dei singoli composti.

L'**obiettivo** di questa sperimentazione è stato quello di approfondire le relazioni esistenti fra l'esposizione dei grappoli alla luce, la maturazione dei frutti e la "qualità" degli antociani e dei flavonoli dell'uva.

## **Materiali e metodi**

La sperimentazione è stata eseguita sul vitigno Barbera in un vigneto sperimentale della Regione Piemonte, impiantato nel 1988 e sito presso il CSVR Tenuta Cannona a Carpeneto (AL), negli anni 2004-2005. Il vigneto è esposto a Sud ed i filari sono disposti a rittochino. Nel vigneto, al fine di aumentare l'esposizione dei grappoli alla radiazione solare, sono state rimosse tutte le foglie della fascia produttiva (50 cm d'altezza) eseguendo l'intervento in epoca precoce (17 giugno, fase di pre chiusura del grappolo) ed in epoca tardiva (12 agosto, fase d'invaiaitura); il comportamento di queste piante è stato confrontato con quello di piante testimoni su cui non era stata effettuata la sfogliatura. Le tesi sono state ripetute su tre filari, distribuendo in modo randomizzato le ripetizioni (15 piante) all'interno dei filari.

Tra le valutazioni effettuate si riportano i risultati relativi ai seguenti parametri: indice di antociani totali alla raccolta; profilo degli antociani e dei flavonoli (soltanto nel 2005) delle bucce durante la maturazione (per HPLC); peso della produzione, numero dei grappoli per pianta, peso medio dei grappoli e contenuto zuccherino alla raccolta.

## **Risultati**

Le due annate si sono distinte soprattutto per la seconda parte della stagione (tab. 1): infatti tra luglio e ottobre la stagione 2005 è stata caratterizzata da non elevate temperature e da piovosità abbondante, il che ha influito negativamente sulla maturazione. Il 2004, al contrario, è stato caratterizzato da un mese di settembre con temperature diurne sempre sopra le medie del periodo e da scarse precipitazioni.

Le osservazioni effettuate in vendemmia sono riassunte in tabella 2.

Nel 2005 il contenuto in **antociani totali delle bucce** alla raccolta è stato significativamente maggiore e significativamente inferiore in relazione al testimone, rispettivamente nelle uve esposte precocemente e in quelle esposte tardivamente (fig. 1). Nell'anno precedente, le bucce di acini esposti precocemente avevano mostrato la minore concentrazione in antociani totali alla raccolta a causa di una diminuzione della stessa concentrazione nelle fasi precedenti la raccolta, probabilmente legata alle alte temperature del mese di settembre; gli acini esposti tardi avevano raggiunto, invece, le concentrazioni più elevate unitamente a quelli delle piante testimoni (fig. 1). Si è quindi ipotizzato che l'esposizione più precoce, e quindi più prolungata, dei grappoli possa portare, non solo ad un precoce accumulo degli antociani, ma anche ad un raggiungimento anticipato della fase di massimo accumulo. Quest'osservazione non è stata confermata dai risultati del 2005 poiché non si è manifestata la fase di diminuzione della concentrazione in nessuna delle situazioni osservate. Nel 2005, l'accumulo degli antociani è iniziato più precocemente rispetto al 2004 anche se la concentrazione è poi aumentata molto più lentamente.

Nel 2004 l'esposizione precoce, oltre ad aver causato una diminuzione della concentrazione degli antociani nelle fasi finali di maturazione, ha indotto, in particolare, un aumento della percentuale di malvidina-3-glucoside e della malvina-3-glucoside legata all'acido p-cumarico in conformità con quanto emerso in altri studi (Spayd *et al.*, 2002; Berqvist *et al.*, 2001; Downey *et al.*, 2004) (tab. 3). Nelle bacche esposte tardivamente non si è avuto l'effetto negativo sull'accumulo degli antociani, ma non si è neppure modificato il rapporto fra le forme libere e quelle acilate degli antociani. Ciò potrebbe suggerire che la modificazione del rapporto fra forme libere e forme legate, verificatosi nel 2004, ma non nel 2005, sia un fatto correlato alle trasformazioni che sono avvenute a carico degli antociani e che ne hanno diminuito la concentrazione al momento della raccolta; tali trasformazioni potrebbero infatti preservare maggiormente le forme più stabili degli antociani. Poiché nei grappoli esposti tardi gli antociani non sono diminuiti si potrebbe supporre che l'esposizione ad alte temperature incida maggiormente, nel determinare le potenzialità nella produzione di antociani, se avviene nelle fasi precoci di sviluppo piuttosto che in quelle più tardive. Nel 2005, annata non particolarmente calda, nelle piante sfogliate precocemente è aumentata la concentrazione degli antociani ed è diminuita la percentuale delle forme acilate degli antociani. Nelle piante sfogliate tardivamente è diminuita la concentrazione degli antociani ed è aumentata la percentuale della malvidina-3-glucoside (tab. 3).

I principali **flavonoli** presenti nel vitigno Barbera sono la miricetina monoglucoside e la quercetina nelle forme glucuronide e monoglucoside. Il loro contenuto nelle bucce, durante la maturazione della stagione 2005, è variato in modo significativo in funzione dei trattamenti eseguiti sulle piante: in linea generale nelle uve esposte precocemente alla radiazione solare la concentrazione è stata maggiore, mentre è risultata inferiore, rispetto a quanto trovato nelle uve delle piante testimoni, nelle uve esposte tardivamente. L'esposizione precoce ha causato un aumento significativo della concentrazione di quercetina (in tutte e due le forme) rispetto ai valori rilevati sulle uve testimoni mentre l'esposizione tardiva ha indotto l'effetto opposto (fig. 2).

Questi risultati consentono di confermare dati relativi ad altre sperimentazioni che hanno mostrato che il contenuto in quercetina, in vite o in altre specie, (Price *et al.*, 1995; Ryan *et al.*, 1998; Haselgrove *et al.*, 2000; Spayd *et al.*, 2002) o, più in generale, in flavonoli (Downey *et al.*, 2004), è maggiore quando i frutti crescono in condizioni d'elevata luminosità. Queste sperimentazioni non riportano risultati sull'effetto dell'epoca d'esposizione in quanto, in tutti i casi indicati, le condizioni di esposizione o di ombreggiamento erano impartite in fasi precoci di sviluppo dei frutti. Si conferma dunque che la sintesi della quercetina è condizionata dal grado d'esposizione alla luce

dei frutti, e che può essere determinante il grado d'esposizione durante le prime fasi dello sviluppo delle bacche. Su grappoli sviluppatasi sempre (fin dalla fioritura) in pressoché totale assenza di luce è stata, infatti, rilevata una quasi totale assenza di flavonoli (Downey *et al.*, 2004), mentre nel nostro caso, in cui l'ombreggiamento è durato solo fino all'invaiaitura, l'esposizione tardiva non ha permesso di recuperare le differenze già evidenti in quel momento. E' probabile dunque che, come evidenziato per la produzione degli antociani (Dokoozlian e Kliewer, 1996), l'esposizione delle bacche alla luce nelle fasi I e II del loro sviluppo sia determinante per condizionare anche l'accumulo stagionale in flavonoli.

## **Conclusioni**

I risultati ottenuti durante le osservazioni sul vitigno Barbera hanno evidenziato che l'esposizione dei grappoli alla radiazione solare, se effettuata dopo l'allegagione, può influenzare sia l'accumulo degli antociani, sia quello dei flavonoli e, in parte, può modificare il rapporto tra i singoli composti appartenenti alle due diverse classi. L'esposizione più tardiva dei grappoli (all'invaiaitura) ha avuto, invece, effetti minori, soprattutto sui flavonoli. Questo ha permesso di ipotizzare che gli effetti della luce e della temperatura ad essa correlata sulle sostanze fenoliche siano anche legati alla fase fenologica in cui il trattamento viene applicato.

Da un punto di vista applicativo le conoscenze acquisite in questo campo sono uno strumento utile in fase di pianificazione di tecniche colturali, quali per esempio la sfogliatura, che, incrementando notevolmente la radiazione luminosa della fascia dei grappoli, può modificare, anche in modo rilevante, il microclima della fascia fruttifera condizionando l'evolversi della maturazione.

## **Bibliografia**

- BERGQVIST J., DOKOOZLIAN N., EBISUDA N. 2001. Sunlight exposure and temperature effects on berry growth and composition of Cabernet Sauvignon and Grenache in the Central San Joaquin Valley of California. *Am. J. Enol. Vitic.* 52, 1-7.
- CRIPPEN D.D., MORRISON J.C. 1986. The effect of sun exposure on the phenolic content of Cabernet Sauvignon berries during development. *Am. J. Enol. Vitic.*, 37, 4, 243-247.
- DOKOOZLIAN N. K., KLIEWER W. M. 1996. Influence of light on grape berry growth and composition varies during fruit development. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.*, 121, 869-874.
- DOWNEY M.O., HARVEY J.S., ROBINSON S.P. 2004. The effects of bunch shading on berry development and flavonoid accumulation in Shiraz grapes. *Aust. J. Grape and Wine Research*, 10, 55-73.
- FITZGERALD J., PATTERSON W.K. 1994. Response of Reliance table grapes to canopy management and ethephon application. *J.Am.Soc.Hort.Sci.*, 119, 5, 893-898.
- HALE C.R., BUTTROSE M.R. 1974. Effect of temperature on ontogeny of berries of *Vitis vinifera* L., cv Cabernet Sauvignon. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.* 99 (5): 390-394.
- HASELGROVE L., BOTTING D., VAN HEESWIJCK R., HØI P.B., DRY P.R., FORD C., ILAND P.G. 2000. Canopy microclimate and berry composition: the effect of bunch exposure on the phenolic composition of *Vitis vinifera* L. cv Shiraz grape berries. *Austr. J. Grape and Wine Research* 6, 2, 141-149.
- KLIEWER W.M. 1977. Influence of temperature, solar radiation, and nitrogen on coloration and composition of Emperor grapes. *Am. J. Enol. Vitic.*, 28, 96-103.
- PRICE S.F., BREEN P.J., VALALLADAO M., WATSON B.T. 1995. Cluster sun exposure and quercetin in grapes and wine. *Am. J. Enol. Vitic.* 46, 187-194.

- ROUBELAKIS-ANGELAKIS K.A., KLIEWER W.M. 1986. Effects of exogenous factors on phenylalanine ammonia-lyase activity and accumulation of anthocyanins and total phenolics in grape berries. *Am. J. Enol. Vitic.*, 37, 4, 275-280.
- RYAN K.G., MARKHAM K.R., BLOOR S.J., BRADLEY J.M., MITCHELL K.A., JORDAN B.R. 1998. UVB radiation induced increase in quercetin-kaemferol ratio in wild-type and transgenic lines of *Petunia*. *Photochemistry and Photobiology*, 68, 323-330.
- SMART R.E. 1985. Principles of grapevine canopy microclimate manipulation with implications for yield and quality. A review. *Am. J. Enol. Vitic.*, 36, 230-239.
- SPAYD S.E., TARARA J.M., MEE D.L., FERGUSON J.C. 2002. Separation of sunlight and temperature effects on the composition of *Vitis vinifera* cv Merlot berries. *Am.J Enol.Vitic.*, 53, 3, 171-182.
- VASCONCELOS M.C., CASTAGNOLI S., 2000. Leaf canopy structure and wine performance. *Am. J. Enol. Vitic.*, 51, 4, 390-396.
- YAMANE T., JEONG S.T., YAMAMOTO N.G., KOSHITA Y., KOBAYASHI S. 2006. Effects of temperature on anthocyanin biosynthesis in grape berry skins. *Am.J.Enol.Vitic.*, 57 ,1, 54-59.

Tab. 1 - Dati climatici rilevati a Carpeneto (AL) negli anni 2004 e 2005 (dati Capannina Regione Piemonte). Tmed = Media delle temperature medie; Ptot = precipitazioni totali; ST10 = sommatoria termica a base 10).

*Table 1 –Meteorological data of Carpeneto (AL) in 2004 and 2005 (supplied by Regione Piemonte). Tmed = average of medium temperatures; Ptot = total rainfall; ST10 = degree days, base 10 °C).*

|           | Tmed |      | Ptot |       | ST10 |      |
|-----------|------|------|------|-------|------|------|
|           | 2004 | 2005 | 2004 | 2005  | 2004 | 2005 |
| Aprile    | 13.4 | 11.8 | 64.5 | 67.4  | 107  | 63   |
| Maggio    | 17,1 | 17,9 | 80,4 | 61,8  | 221  | 246  |
| Giugno    | 23,0 | 22,4 | 9,6  | 7,6   | 390  | 371  |
| luglio    | 24,8 | 23,7 | 15,6 | 70,8  | 459  | 424  |
| Agosto    | 25,7 | 21,8 | 52,6 | 62,0  | 487  | 366  |
| Settembre | 22,2 | 19,2 | 31,8 | 111,2 | 366  | 275  |
| Ottobre   | 17,4 | 13,0 | 96,2 | 69,6  | 229  | 94   |



Tab. 2 – Valutazioni ponderali, numero di grappoli per ceppo e grado zuccherino (SST) del mosto alla vendemmia, nei due anni di osservazione. Nell’ambito dello stesso anno, valori seguiti da lettera diversa differiscono significativamente per  $P \leq 0,05$ .

*Table 2 – Cluster weights, number of clusters per vine, vine yield, berry weights and soluble solid content (SSC) at harvest in 2004 and in 2005 (testimone = control; precoce = early-exposed clusters; tardivo = late-exposed clusters). In the same year numbers followed by different letters significantly differ for  $P \leq 0,05$ ).*

|      |           | <b>peso<br/>grappolo<br/>(g)</b> | <b>grappoli<br/>per ceppo<br/>(n)</b> | <b>produzione<br/>per ceppo<br/>(Kg)</b> | <b>peso<br/>acino<br/>(g)</b> | <b>SST<br/>(°Brix)</b> |
|------|-----------|----------------------------------|---------------------------------------|--|-------------------------------|------------------------|
| 2004 | testimone | 293 a                            | 15,2 a                                | 4,5 ab                                   | 2,85 b                        | 24,1 b                 |
|      | precoce   | 289 a                            | 15,2 a                                | 4,3 a                                    | 2,92 a                        | 24,5 b                 |
|      | tardivo   | 250 b                            | 15,7 a                                | 3,9 b                                    | 2,75 c                        | 25,8 a                 |
| 2005 | testimone | 214 a                            | 18,1 a                                | 3,9 a                                    | 2,76 b                        | 20,8 b                 |
|      | precoce   | 194 a                            | 15,6 b                                | 3,0 b                                    | 2,72 ab                       | 22,1 a                 |
|      | tardivo   | 207 a                            | 17,5 a                                | 3,6 ab                                   | 2,88 a                        | 21,5 ab                |

Tab. 3 - Antociani totali (mg/kg) e profilo antocianico (%) delle bucce degli acini delle tre tesi alla raccolta, nei due anni della sperimentazione, (df = delphinidina, cy = cianidina, pt = petunidina, pn = peonidina, mv = malvidina, 3gl = 3-glucoside; acil. tot. = somma di tutte le forme acilate degli antociani). (Nell'ambito dello stesso anno e della stessa colonna valori seguiti da lettera diversa differiscono significativamente per  $P \leq 0,05$ ).

*Table 3 –Total anthocyanins (mg/kg) and anthocyanin profile (%) of berry skins at harvest in 2004 and 2005 (testimone = control; precoce = early-exposed clusters; tardivo = late-exposed clusters); (df = delphinidin, cy = cyanidin, pt = petunidin, pn = peonidin, mv = malvidin; 3gl = 3-O-glucoside, acil. tot. = anthocyanin total acylated forms). (In the same year and in the same column numbers followed by different letters significantly differ for  $P \leq 0.05$ ).*

|      |           | <b>Antociani<br/>totali<br/>(mg/kg)</b> | <b>Df -3gl<br/>(%)</b> | <b>Cy-3gl<br/>(%)</b> | <b>Pt-3gl<br/>(%)</b> | <b>Pn-3gl<br/>(%)</b> | <b>Mv-<br/>3gl<br/>(%)</b> | <b>acil.tot.<br/>(%)</b> |
|------|-----------|---|------------------------|-----------------------|-----------------------|-----------------------|----------------------------|--------------------------|
| 2004 | testimone | 1414 a                                  | 17,2 a                 | 5,8 b                 | 15,4 a                | 6,0 a                 | 37,7 b                     | 17,9 b                   |
|      | precoce   | 1152 b                                  | 15,1 b                 | 5,0 c                 | 14,5 a                | 5,0 b                 | 39,9 a                     | 20,5 a                   |
|      | tardivo   | 1521a                                   | 17,1 a                 | 7,0 a                 | 15,6 a                | 6,9 a                 | 36,8 b                     | 16,6 c                   |
| 2005 | testimone | 981 b                                   | 15,0 a                 | 6,3 a                 | 14,2 a                | 5,8 a                 | 36,9 b                     | 21,8 a                   |
|      | precoce   | 1178 a                                  | 15,5 a                 | 6,6 a                 | 14,7 a                | 6,0 a                 | 36,9 b                     | 20,4 b                   |
|      | tardivo   | 946 c                                   | 14,4 a                 | 6,1 a                 | 14,0 a                | 5,8 a                 | 38,3 a                     | 21,5 a                   |

didascalie figure

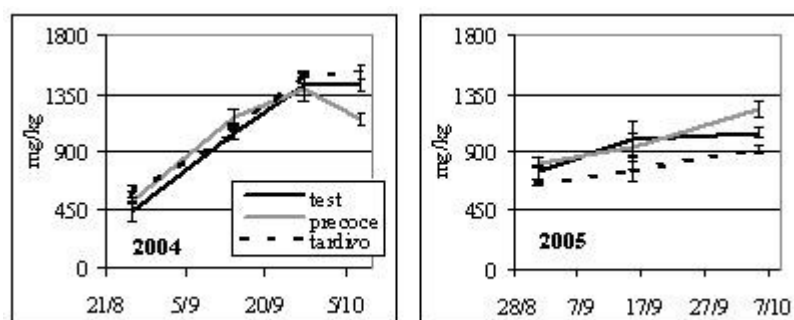


Fig. 1. Variazione del contenuto in antociani totali nel corso della stagione 2004 e 2005, (medie  $\pm$  errore standard).

*Figure 1. Seasonal changes of skin anthocyanin amount in 2004 and 2005, cv. Barbera (average  $\pm$  standard error).*

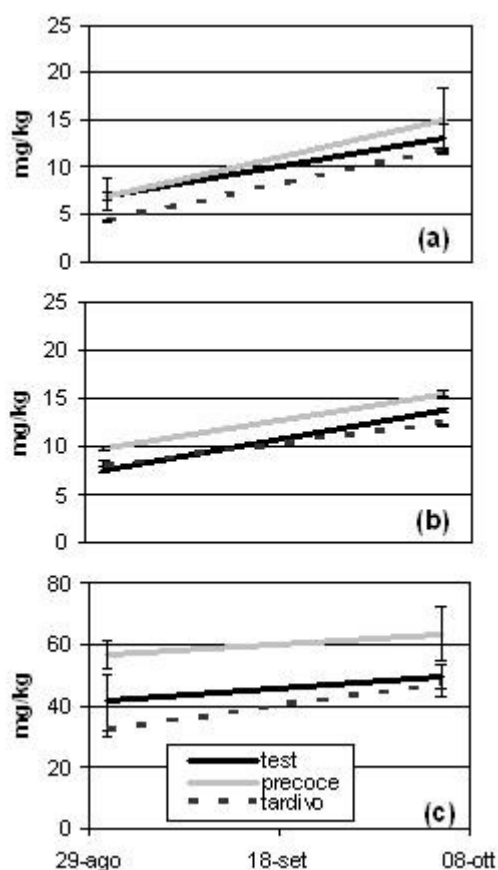


Fig. 2. Variazione del contenuto dei tre principali flavonoli delle uve Barbera durante la maturazione nel 2005. (a): miricetina monoglucoside, (b): quercetina glucuronide, (c): quercetina monoglucoside.

*Figure 2. Figure 1. Seasonal changes of skin flavonol amount in 2005, cv. Barbera (average  $\pm$  standard error). (a): myricetin-3-glucoside, (b): quercetin glucuronide, (c): quercetin-3-glucoside.*